

FLUORESZENZMIKROSKOPISCHE BESTIMMUNG
DES MÄNNLICHEN KERNGESCHLECHTS
AN GEHIRN UND NIERE

Gerhard Hörwick

1977

Dissertations- und Fotodruck Anneliese SCHUBERT
8 München 5 • Corneliusstraße 21 • Tel.: 268177

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Wolfgang Spann

Fluoreszenzmikroskopische Bestimmung
des männlichen Kerngeschlechts
an Gehirn und Niere

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von
Gerhard Hörwick

aus
München

1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. H. D. Tröger

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. W. Spann

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Oktober 1977



INHALT

I. Einleitung	1
II. Hauptteil	2
III. Schluss	3
IV. Anhang	4
V. Literaturverzeichnis	5
VI. Register	6
VII. Meiner lieben Gaby	7
VIII. ...	8
IX. ...	9
X. ...	10
XI. ...	11
XII. ...	12
XIII. ...	13
XIV. ...	14
XV. ...	15
XVI. ...	16
XVII. ...	17
XVIII. ...	18
XIX. ...	19
XX. ...	20
XXI. ...	21
XXII. ...	22
XXIII. ...	23
XXIV. ...	24
XXV. ...	25
XXVI. ...	26
XXVII. ...	27
XXVIII. ...	28
XXIX. ...	29
XXX. ...	30
XXXI. ...	31
XXXII. ...	32
XXXIII. ...	33
XXXIV. ...	34
XXXV. ...	35
XXXVI. ...	36
XXXVII. ...	37
XXXVIII. ...	38
XXXIX. ...	39
XL. ...	40
XLI. ...	41
XLII. ...	42
XLIII. ...	43
XLIV. ...	44
XLV. ...	45
XLVI. ...	46
XLVII. ...	47
XLVIII. ...	48
XLIX. ...	49
L. ...	50
LI. ...	51
LII. ...	52
LIII. ...	53
LIV. ...	54
LV. ...	55
LVI. ...	56
LVII. ...	57
LVIII. ...	58
LIX. ...	59
LX. ...	60
LXI. ...	61
LXII. ...	62
LXIII. ...	63
LXIV. ...	64
LXV. ...	65
LXVI. ...	66
LXVII. ...	67
LXVIII. ...	68
LXIX. ...	69
LXX. ...	70
LXXI. ...	71
LXXII. ...	72
LXXIII. ...	73
LXXIV. ...	74
LXXV. ...	75
LXXVI. ...	76
LXXVII. ...	77
LXXVIII. ...	78
LXXIX. ...	79
LXXX. ...	80
LXXXI. ...	81
LXXXII. ...	82
LXXXIII. ...	83
LXXXIV. ...	84
LXXXV. ...	85
LXXXVI. ...	86
LXXXVII. ...	87
LXXXVIII. ...	88
LXXXIX. ...	89
LXXXX. ...	90
LXXXXI. ...	91
LXXXXII. ...	92
LXXXXIII. ...	93
LXXXXIV. ...	94
LXXXXV. ...	95
LXXXXVI. ...	96
LXXXXVII. ...	97
LXXXXVIII. ...	98
LXXXXIX. ...	99
LXXXXX. ...	100

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A <u>Einleitung</u>	1
B <u>Literatur</u>	2
C <u>Material und Methoden</u>	5
I Untersuchungsmaterial	5
1. Gehirn	5
2. Niere	5
3. Gehirn und Niere von in Fäulnis übergegangenen Leichen	6
II Arbeitsmethoden	6
1. Herstellung der Präparate	6
2. Fixieren und Färben der Präparate	7
3. Auswertung der Präparate	8
D <u>Ergebnisse</u>	9
I Hirngewebe	9
1. Ergebnisse bei 7 männlichen Leichen	10
2. Ergebnisse bei 4 weiblichen Leichen	19
3. Vergleich einiger Gefrierschnitte aus Rinden- und Marksubstanz des Gehirns	23
II Niere	24
1. Ergebnisse bei 7 männlichen Leichen	25
2. Ergebnisse bei 4 weiblichen Leichen	34
III In Fäulnis übergegangene Leichen	36

E	<u>Diskussion</u>	43
F	<u>Zusammenfassung</u>	49
G	<u>Literaturverzeichnis</u>	51

A Einleitung

Die Geschlechtsbestimmung aus biologischem Spurenmaterial ist für die forensische Medizin ein wertvolles Hilfsmittel bei der Identifizierung von Personen. Bisher wurden eingehende Untersuchungen zur Diagnostik des männlichen Kerngeschlechts unter anderem an Blutzellen, Haarwurzelzellen und an Zellen der Wangenschleimhaut durchgeführt, während über entsprechende Untersuchungen an parenchymatösen Organen in der Literatur noch relativ wenig berichtet wurde. Im Rahmen dieser Arbeit habe ich versucht an Zellen des Gehirns und der Niere das Kerngeschlecht eindeutig zu ermitteln und gleichzeitig seine zeitliche Nachweisgrenze festzustellen. Die selektive starke Anfärbung eines Teils des Y-Chromosoms durch Fluorochrome der Atebringruppe bedingt die Möglichkeit der Geschlechtsdiagnostik im Fluoreszenzmikroskop.

B Literatur

Seit den Untersuchungen von BARR² 1949 ist es möglich, das weibliche Geschlecht durch den Nachweis des Geschlechtschromatins in den Zellkernen zu bestimmen. In den Zellen von Frauen ist im Interphasekern neben dem Nukleolus ein zweiter Körper sichtbar, der wesentlich kleiner ist als dieser und der Kernmembran innen anliegt - das Barrkörperchen.

Die Bestimmung des männlichen Kerngeschlechts war bis zu diesem Zeitpunkt nur im Ausschlußverfahren möglich, also bei fehlenden weiblichen Zellkernen. Erst die Untersuchungen von CASPERSSON^{4,5,6} und PEARSON²⁰ haben gezeigt, daß auch in männlichen Zellkernen ein positiver Geschlechtssnachweis zu führen ist.

CASPERSSON u. Mitarbeiter⁶ beschrieben 1969 eine Methode, die mit fluoreszierenden Acridinderivaten (Quinacrine, Quinacrine Mustard) eine unterschiedlich starke Anfärbbarkeit bestimmter Chromosomenabschnitte erreicht. Mit Hilfe dieser neuen Technik kann jedes der 46 Chromosomen in der Metaphase durch sein eigenes spezifisches Bandenmuster charakterisiert werden. Insbesondere der distale Anteil des langen Armes des Y-Chromosoms zeigt bei Ultraviolettlicht im Fluoreszenzmikroskop eine

auffällig starke Fluoreszenz. Diese selektive starke Anfärbung des Y-Chromosoms bewirkt, daß das Y-Chromosom in einer Metaphaseplatte leicht zu erkennen ist. PEARSON u. Mitarbeiter²⁰ konnten 1970 nachweisen, daß auch im Interphasekern das Heterochromatin des Y-Chromosoms deutlich sichtbar bleibt und sich als stark leuchtender Punkt von ca. $1 - 2/\mu$ Durchmesser darstellt.

Dieses Fluoreszenzkörperchen wurde inzwischen u.a. in Haarwurzelzellen (SCHWINGER²⁴), an Zellen der Mundschleimhaut (AJEWSKI e. al.¹⁶, MÜLLER e. al.¹⁹), in Spermien (BARLOW¹, KEGEL e. al.¹⁴) und an Blutspuren (CONEN⁸, MENDE u. ALONSO¹⁸, POLANI u. MUTTON²¹, SCHWINGER²⁵) nachgewiesen. Ähnliche Untersuchungen an parenchymatösen Organen fanden dagegen bisher nur in vergleichbar bescheidenem Umfang statt (KOVACS¹⁵, SELLYEI e. al.²⁸, IORIO u. WYANDT¹³, HERBICH u. MEINHART¹², KEGEL u. CONEN¹⁴, GOLDGEFTER¹⁰).

Die Bestimmung des Y-body an parenchymatösen Organen kann jedoch gerade bei der Geschlechtsdifferenzierung an verstümmelten Leichen und an aufgefundenen Körperfragmenten von praktischem Interesse sein. Um festzustellen, ob und wie lange die Fluoreszenzanfärbung von Zellkernen eine sichere Geschlechtsdiagnose beim Menschen erlaubt, wurden die folgen-

den Untersuchungen am Hirngewebe und an der Nierenrinde durchgeführt. Dabei kamen drei verschiedene Methoden zur Anwendung, die auf ihre Brauchbarkeit hin geprüft wurden.

C Material und Methoden

I. Untersuchungsmaterial

1. Gehirn

Von sieben männlichen und vier weiblichen Leichen im Alter von sechs Wochen bis zu 73 Jahren wurde Gehirngewebe aus dem Frontallappen des Großhirns entnommen. Die Gewebeproben wurden jeweils am Tag der Entnahme, im allgemeinen zwei Tage später und dann an jedem darauffolgenden Tag unter dem Fluoreszenzmikroskop untersucht. Im allen Fällen wurden nach Möglichkeit 50 Kerne pro Präparat ausgezählt. Das Gewebematerial wurde solange untersucht, bis praktisch keine Fluoreszenzkörperchen mehr nachzuweisen waren. In den Präparaten, die von Männern stammten, fanden sich dann auch meistens keine Zellkerne mehr. Zwischen Entnahme und Aufarbeitung wurde ein Teil der Gewebeproben in mit frischem Leitungswasser gefüllten Petrischalen, der andere Teil in leeren Petrischalen bei Zimmertemperatur (ca. 20°C) und Tageslicht gelagert.

2. Niere

Das meist vom oberen bzw. unteren Nierenpol stammende Untersuchungsmaterial wurde

von denselben Leichen entnommen, von denen die Gewebeproben aus dem Gehirn stammten. Die Bearbeitung und Lagerung der Gewebe erfolgte auf die schon unter Punkt 1 beschriebene Weise.

3. Gehirn und Niere von in Fäulnis übergegangenen Leichen

Im Gegensatz zu den oben durchgeführten Untersuchungen an Gewebeproben, die innerhalb der ersten 48 Stunden nach Eintritt des Todes entnommen wurden, stammt dieses Untersuchungsmaterial von zehn männlichen und einer weiblichen Leiche die bereits in Fäulnis übergegangen sind. Es wurden nur am Tag der Entnahme, d.h. nur ein einziges Mal Präparate angefertigt und beurteilt.

II. Arbeitsmethoden

1. Herstellung der Präparate

Die mikroskopischen Präparate wurden durch Ausstreichen der Gewebeproben auf dem Objektträger, als Gefrierschnitte oder als Zupfpräparate hergestellt.

Ausstrich: Mit einem Skalpell wurden keilförmige Gewebstückchen aus der Hirnrinde und der Nierenrinde geschnitten. Anschließend

wurden mit der Schnittfläche des Organs feine, aus möglichst wenigen Zellagen bestehende Abstriche angefertigt. So konnte eine zu starke Fluoreszenz durch Interferenz sich überlagernder Zellkerne verhindert werden. Bei allen drei Verfahren sollte man stets darauf achten, daß die Objektträger nicht zu sehr mit dem in den Organproben verbleibenden Restblut verunreinigt werden.

Gefrierschnitt: Von den bis auf -30°C abgekühlten Geweben werden $20\text{ }\mu$ dicke Schnitte angefertigt. Die einzelnen Schnitte werden mit einem angefeuchteten Pinsel vom Messer auf den Objektträger übertragen und dort ausgebreitet. Zusätzlich werden bei der ersten Untersuchung der Organproben jeder Leiche auch Gefrierschnitte aus der Marksubstanz des Großhirns hergestellt. So kann die Häufigkeit des Auftretens des Y-body in Mark und Rinde festgestellt werden.

Zupfpräparat: Die etwa stecknadelkopfgroßen Gewebeproben werden auf einem Objektträger mit zwei Präpariernadeln zerteilt.

2. Fixieren und Färben der Präparate

Diese Arbeiten erfolgten in Anlehnung an SCHWINGER^{25,26}, FRÜND e. al.⁹ und SCHAIDT u. KRÜGER²³. Nachdem die beschickten Objektträger an der Luft getrocknet sind, werden sie für 5 Minuten in absolutem Methanol fixiert, wieder luftgetrocknet und anschließend 30 Minuten lang in einer 0,01% Quinacrine Mustard Lösung gefärbt. Dann werden sie 5 Minuten in stehendem Leitungswasser gespült und mit Phosphatpuffer nach Sörensen eingedeckt. Zur Herstellung der Färbelösung wird der Fluoreszenzfarbstoff Quinacrine Mustard (Fa. Serva) in Phosphat-Citrat-Puffer nach Mc Ilvaine (pH 4,4) in einer Konzentration von 0,1 mg/ml gelöst. Sie wird im Kühlschrank bei +4°C aufbewahrt.

3. Auswertung der Präparate

Die mikroskopische Auswertung erfolgte mit dem LEITZ-WETZLAR Auflichtfluoreszenzmikroskop "Ortholux II" mit Binokulartubus, einer Quecksilberhöchstdrucklampe HBO 50W und den Filtern BG 38 blau und KH 510. Die Präparate wurden unter fluoreszenzfreier Ölimmersion ($n_D=1,515$, $v=49$) bei 220- und 1000-facher Vergrößerung betrachtet.

D Ergebnisse

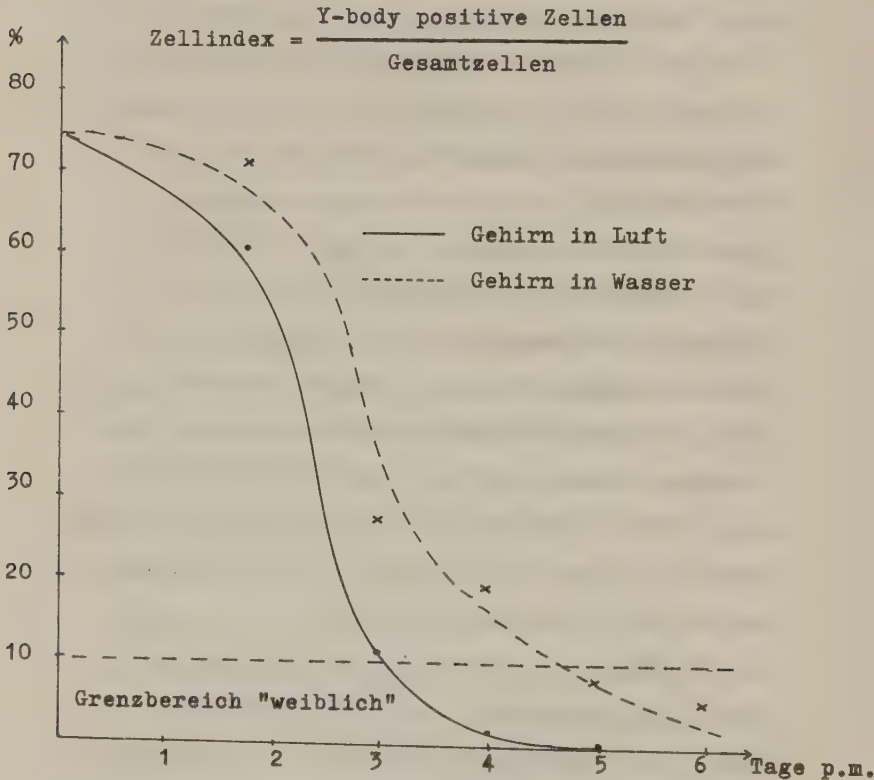
I. Hirngewebe

Eine Geschlechtsdiagnose ist an Zellen des Großhirns innerhalb der ersten zwei Tage - bei den in Wasser gelagerten Gewebeproben innerhalb der ersten drei Tage nach Eintritt des Todes immer möglich gewesen. Kerne die nicht eindeutig als fluoreszenzpositiv oder fluoreszenznegativ zu klassifizieren waren, wurden nicht mitgezählt. Nach SCHWINGER²⁷ und ROBINSON²² sollten pro Präparat mindestens 50 intakte Kerne ausgezählt werden. Stellen, die von Bakterien besiedelt waren, sollten nicht berücksichtigt werden. Diese Kriterien ließen sich bei älterem Zellmaterial nicht immer einhalten, da bei diesen Präparaten die Anzahl der Kerne stark abnimmt, während die Kontamination mit Bakterien zunimmt.

Das Verhältnis fluoreszenzpositiver Kerne zur Anzahl der Gesamtkerne wird nach BRINKMANN u. JOBST³ als "Zellindex" bezeichnet und in Prozent ausgedrückt. Zellindices, die größer als 10% sind werden als männlich gewertet (BRINKMANN u. JOBST³).

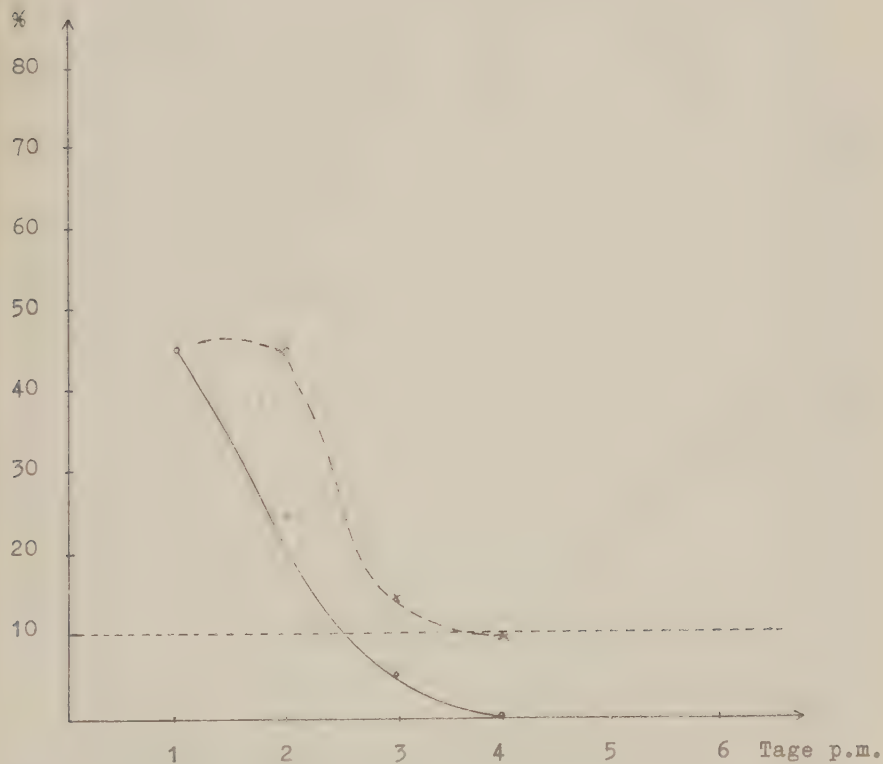
1. Ergebnisse bei sieben männlichen Leichen

GS 580/75 männlich, 19 Jahre; Herzversagen bei Brustkorbschrotschuß



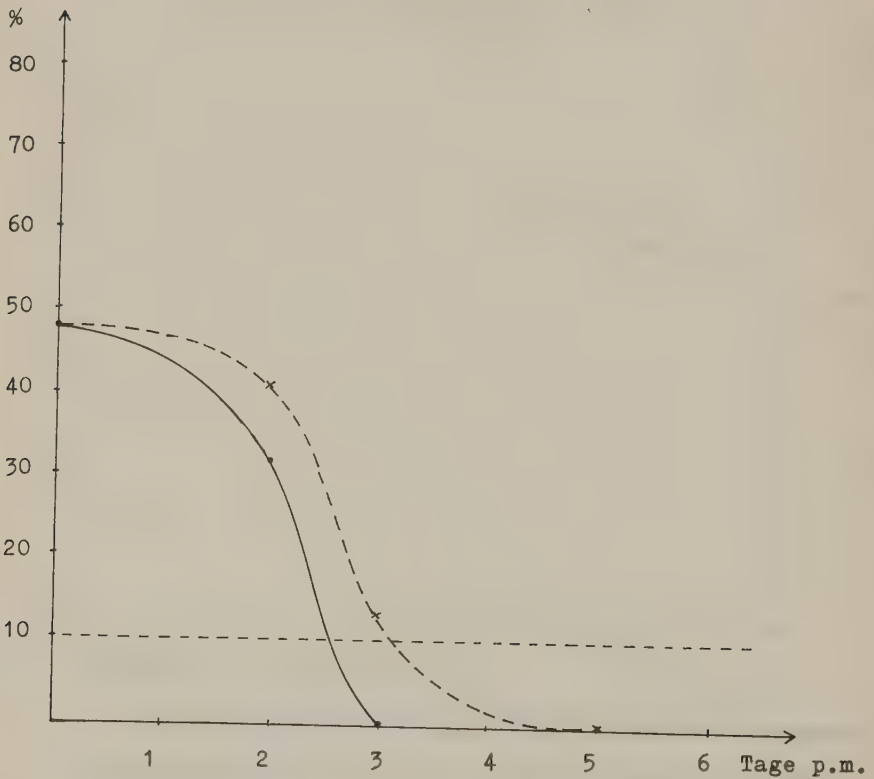
Die Summe der Y-body-positiven Zellen aus Abstrich-, Gefrierschnitt- und Zupfpräparat dividiert durch die Anzahl der ausgezählten Zellkerne ergibt den Zellindex. Auffallend ist bereits hier der höhere Zellindex der in Wasser gelagerten Organproben.

GS 619/75 männlich, 9 Jahre; Tod durch Ertrinken



Schon am zweiten Tag p.m. zeigten sich vor allem im Abstrichpräparat bei der mikroskopischen Untersuchung sehr viele Bakterien. Eine 100% sichere Unterscheidung zwischen Bakterien und Y-body war nicht immer möglich. Bereits am vierten Tag p.m. war in allen drei "Luftpräparaten" kein Kern mehr nachweisbar.

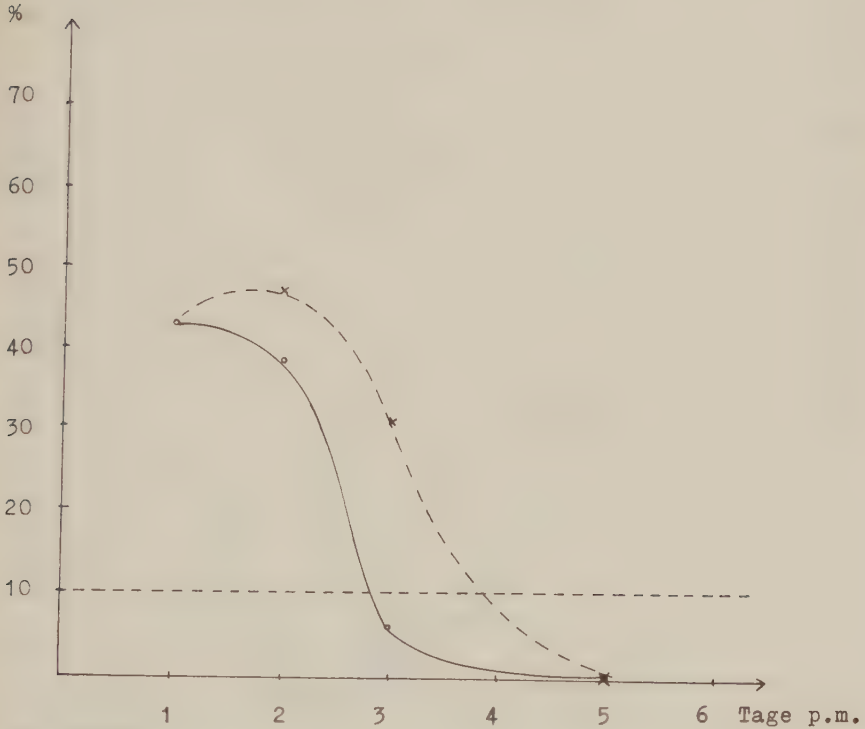
GS 643/75 männlich, 18 Jahre; Verkehrsunfall -
Aortenruptur



Am 3. Tag p.m. fand sich in allen Luftpräparaten ein dichter Bakterienrasen, der keine freie Stelle aufwies. Die Kerne waren stark zerfallen, ihre Umrisse kaum mehr zu erkennen.

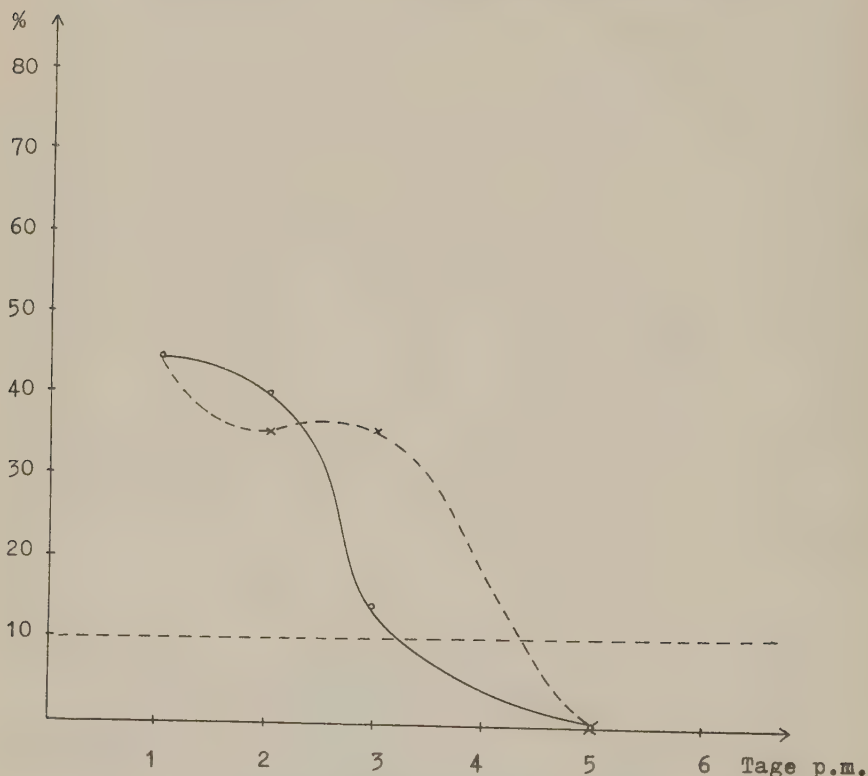
GS 780/75 männlich, 73 Jahre; Herzinfarkt -

Coronararterienstenose



Der annähernd sigmoide Kurvenverlauf bei den bisher beschriebenen Fällen tritt auch hier auf. Bemerkenswert ist der hohe Zellindex der "Wasserpräparate" am 2. Tag p.m., der sogar den am 1. Tag gemessenen Wert übersteigt. Die Kerne im Gefrierschnittpräparat zeigten am 1. Tag p.m. nur schwache Fluoreszenz und wirkten deshalb blaß. Kerngrenzen und Y-body waren jedoch klar zu erkennen.

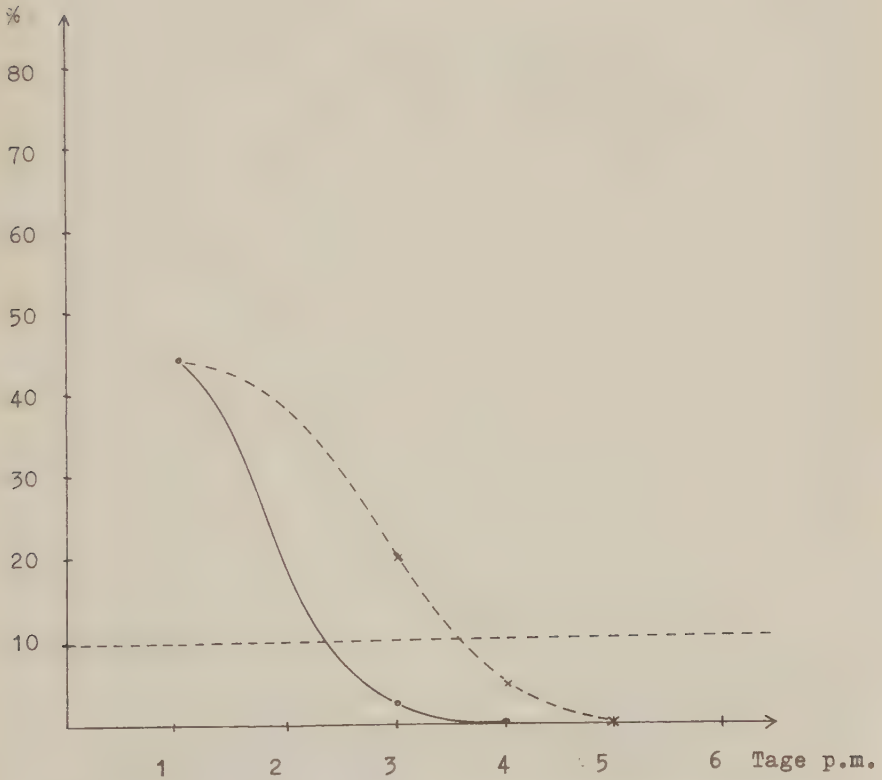
GS 783/75 männlich, 46 Jahre; Coronararterienverschluß



Wie im Fall GS 643 gelingt es auch hier nicht, am 3. Tag p.m. noch in allen Luftpräparaten mindestens 50 Kerne auszuzählen. Im Abstrichpräparat sind nur noch 18 Zellkerne aufzufinden. Am 2. Tag p.m. ist der Zellindex der Wasserpräparate niedriger als der der Luftpräparate. In allen übrigen Fällen weisen die in Wasser gelagerten Organproben stets höhere Zellindices auf.

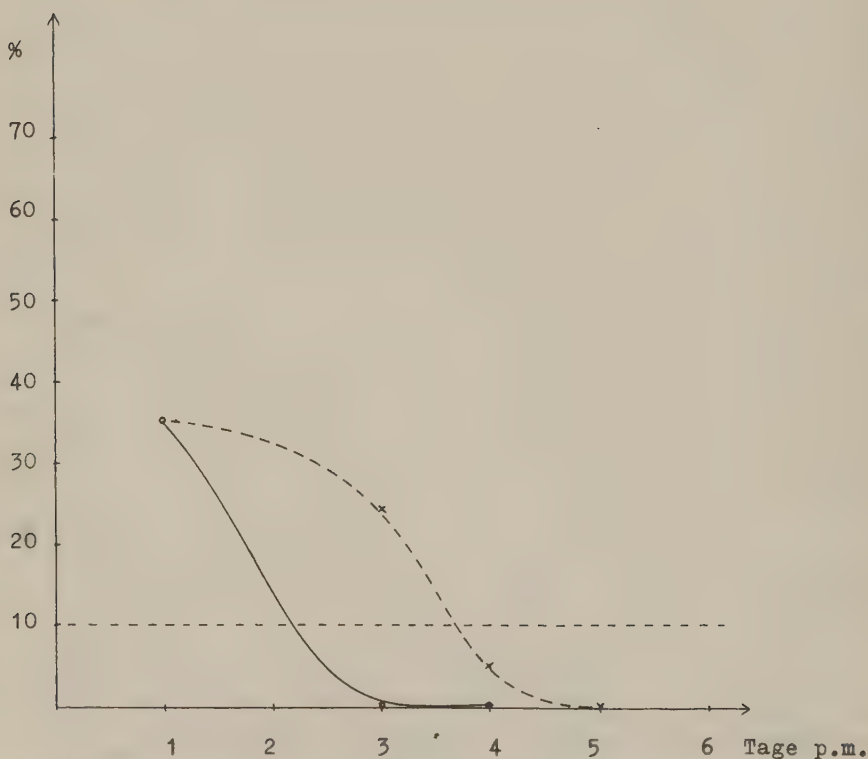
GS 792/75 männlich, 6 Wochen; hämorrhagische Pneumonie

- Aspiration von Erbrochenem



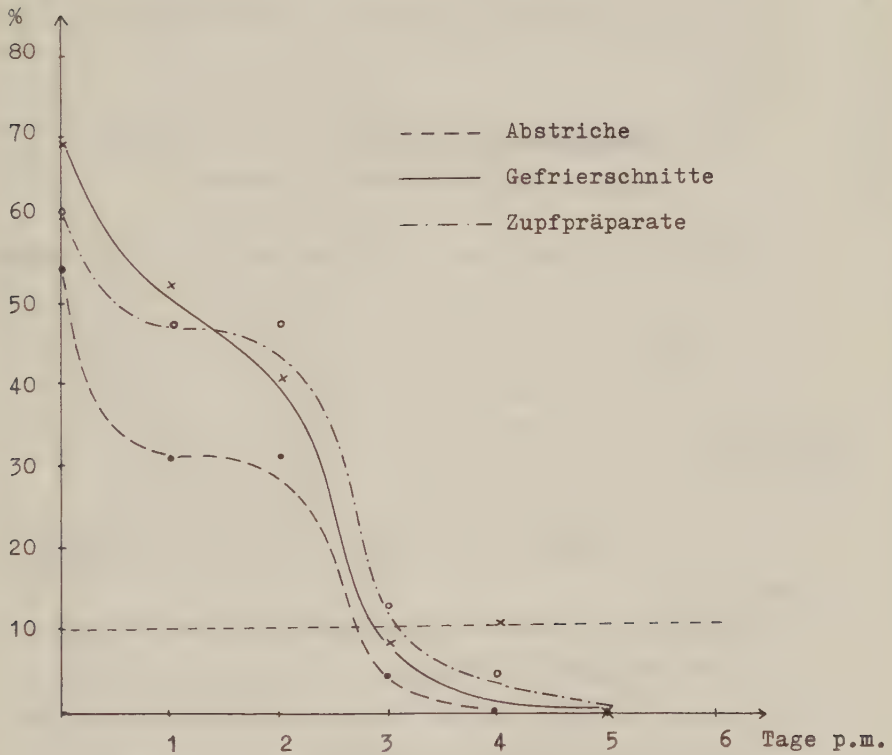
Das in Luft gelagerte Hirngewebe war bereits am 3. Tag p.m. makroskopisch stark autolytisch verändert.

GS 793/75 männlich, 20 Jahre; Tauchunfall - Tod
durch Ertrinken



Am 3. Tag p.m. war in zahlreichen Luftpräparaten eine starke schollige Zersplitterung und Auflösung der Zellkerne zu beobachten, die im vorausgehenden Fall wesentlich schwächer ausgeprägt war. Dies ist deshalb erstaunlich, da bei GS 792 das Gewebe völlig erweicht war, und die Hirnwindungen nicht mehr sichtbar waren. Im vorliegenden Fall war jedoch das Gewebe makroskopisch noch gut erhalten.

Korrelation zwischen Zellindex und angewandter Untersuchungstechnik bei insgesamt 7 männlichen Leichen.



Die in Wasser gelagerten Gehirne sind in der Abbildung nicht berücksichtigt.

Aus der Abbildung und der nachfolgenden Übersichtstabelle sieht man, daß die Zupfpräparate am 3. und 4. Tag p.m. den höchsten Zellindex aufweisen. Der

hohe Wert von 11% am 4. Tag p.m. bei den Gefrierschnitten wurde im Diagramm nicht berücksichtigt. Der Prozentsatz der positiv fluorochromierten Zellen war hier nicht exakt festzulegen. (Erklärung siehe unten)

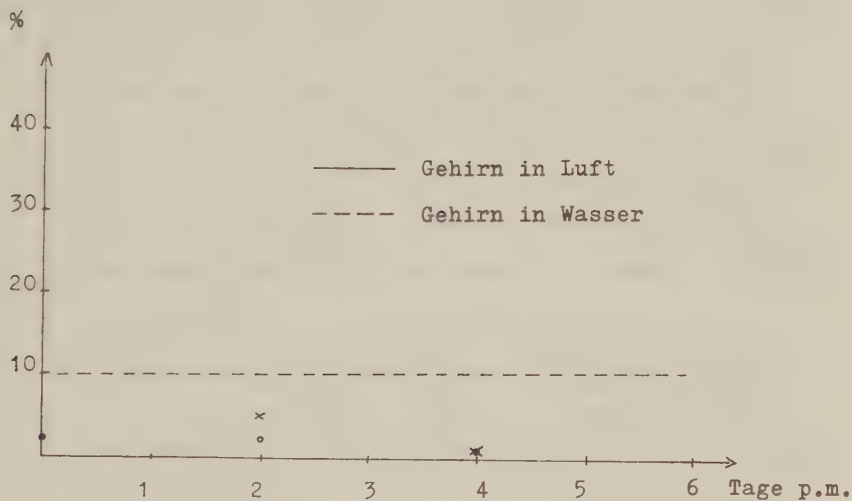
Übersichtstabelle: Gewebeproben aus dem Gehirn
Zellindex in Prozent

Tage p.m.	Abstriche	Gefrierschnitte	Zupfpräparate
0	54	69	61
1	31	52	47
2	32	41	47
3	4	8	12
4	0	(11)	4
5	0	0	0

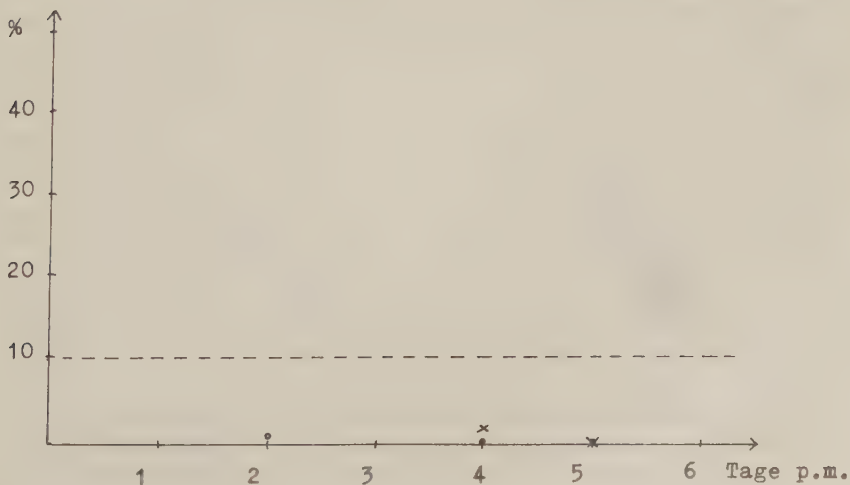
Die Tabelle zeigt den mittleren Zellindex im Verlauf der ersten 5 Tage p.m. bei insgesamt 7 männlichen Leichen. Die in Wasser gelagerten Gehirne wurden dabei nicht berücksichtigt. Am 4. Tag p.m. waren in allen 7 Gefrierschnitten insgesamt nur 9 Zellkerne auszählbar. Nur ein einziger Zellkern wies ein deutlich fluoreszierendes Y-body auf. Da es bei diesem Zahlenverhältnis nicht korrekt ist, einen Zellindex von 11% anzugeben wurde der Wert in der Tabelle in Klammern gesetzt.

2. Ergebnisse bei vier weiblichen Leichen

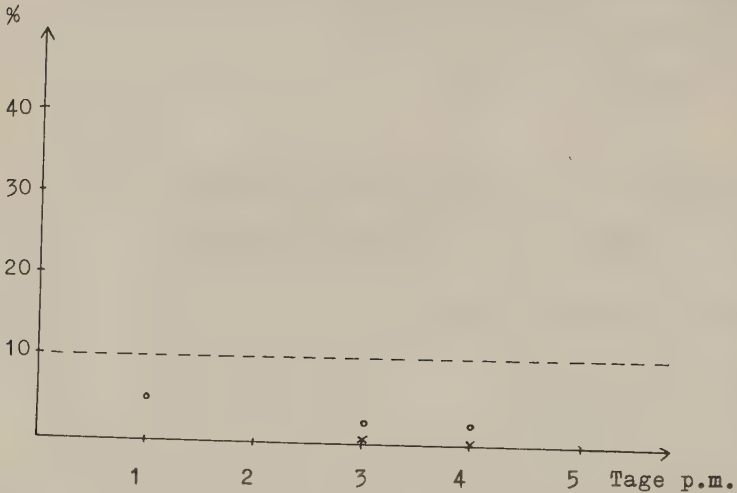
GS 650/75 weiblich, 22 Jahre; Messerstichverletzungen



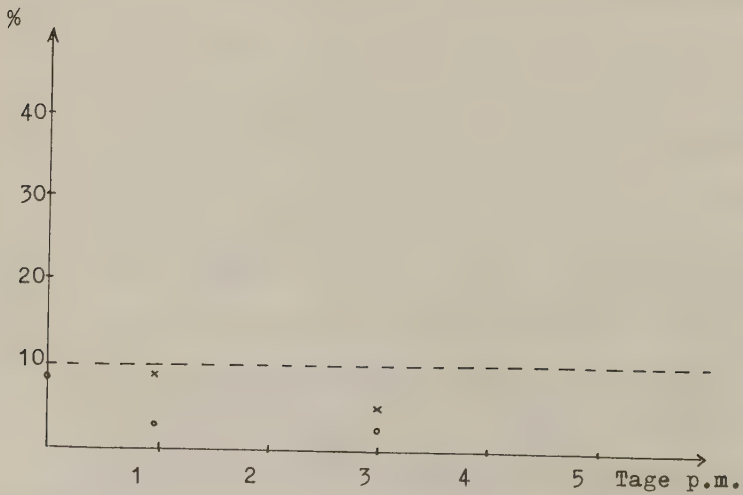
GS 655/75 weiblich, 9 Jahre; CO-Vergiftung



GS 810/75 weiblich, 22 Jahre; Schußverletzung



GS 879/75 weiblich, 6 Wochen; hämorrhagische Pneumonie



Um falsch positive Werte zu vermeiden, wurden zur Kontrolle Organproben aus vier weiblichen Gehirnen mehrmals in Abständen von 1 - 2 Tagen mituntersucht. In allen vier Fällen konnten fluoreszenzkörperchen-ähnliche Gebilde beobachtet werden. Die Häufigkeit des Auftretens der Y-body-ähnlichen Strukturen lag im Durchschnitt bei ca. 3% und stieg in einem Fall (GS 879) bis auf 8% an. Der sogenannte "weibliche" Grenzbereich von 10% wurde jedoch nie überschritten.

Bei frisch untersuchten Geweben ermöglicht nicht alleine das fehlende F-body die richtige Geschlechtsdiagnose. Vielfach ist bereits bei der Beobachtung der homogen strukturierten weiblichen Zellkerne eine Entscheidung "männlich" bzw. "weiblich" zu treffen. In männlichen Zellkernen wechseln stärker fluoreszierende Bezirke mit schwächeren ab und verleihen so dem Kern ein ungleichmäßiges, inhomogenes Aussehen im Mikroskop.



♀



♂

Mit zunehmendem Alter der Gewebsproben treten auch in weiblichen Kernen vermehrt Chromatinverklumpungen und Artefakte auf. Die Kerne sind dann nicht mehr allein aufgrund ihrer Struktur von männlichen Zellkernen zu differenzieren. Artefakte sind jedoch durch ihre Größe und Leuchtintensität für den Geübten leicht von Y-body zu unterscheiden.

3. Vergleich einiger Gefrierschnitte aus Rinden- und Marksubstanz des Gehirns.

Bei der Untersuchung von Gefrierschnitten frischer Gewebe aus der Hirnrinde und dem Hirnmark von 6 männlichen Leichen wurden folgende Beobachtungen gemacht:

Die Gefrierschnitte aus der Hirnrinde wiesen in drei Fällen einen höheren und in zwei Fällen einen niedrigeren Zellindex auf als die Gefrierschnitte aus dem Hirnmark. In einem Fall war der Zellindex in Rinde und Mark annähernd gleich.

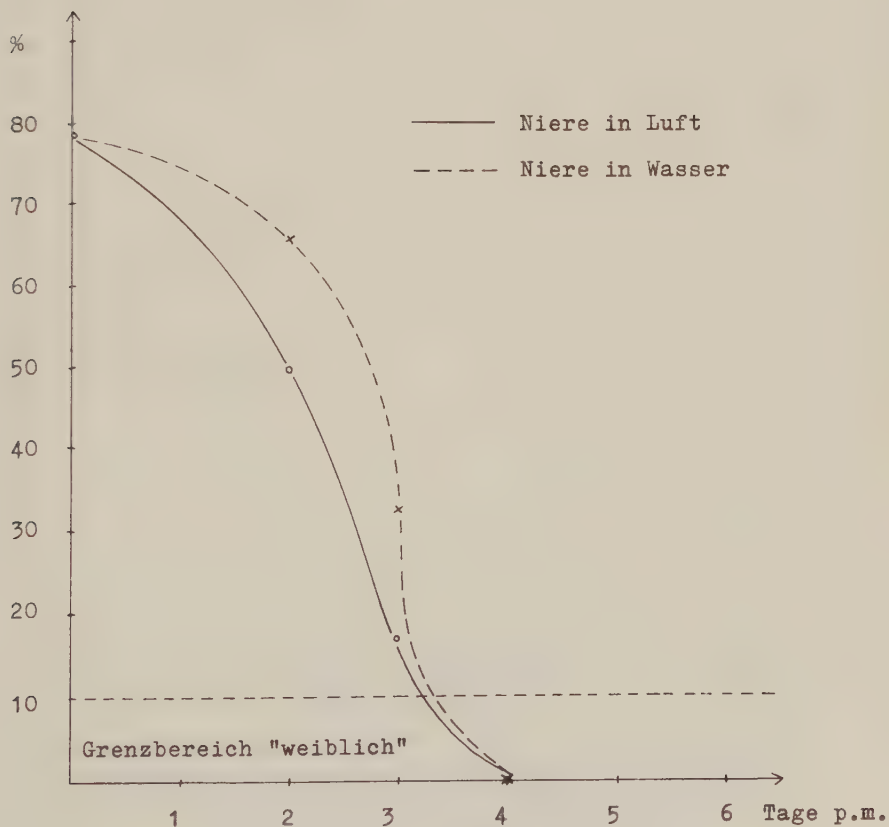
In der Hirnrinde lassen sich die größeren Neuronen durch ihr feines Chromatinmuster und durch den sich blasig darstellenden Nukleolus von der astrocytären Glia unterscheiden. Die Gliazellen der Rinde (Astrocyten) und auch die des Marks (Oligodendroglia) unterscheiden sich fluoreszenzmikroskopisch von den Neuronen durch ihren kleineren Kern und das heller leuchtende Chromatingerüst. Eine Bestimmung des Y-body ist in allen drei Zelltypen leicht möglich.

II. Niere

Im allgemeinen ist eine Geschlechtsdiagnose an den Zellen der Nierenrinde in den ersten drei Tagen p.m. möglich. Lediglich in einem Fall (GS 643) war der Zellindex der Luftpräparate bereits am 3. Tag p.m. auf 5% abgesunken. In zwei weiteren Fällen (GS 780 und GS 793) bewegte sich der Zellindex am 3. Tag p.m. an der 10%-Grenze bei 10 bzw. 11%. Aus der Struktur des Kerns und den sich sehr deutlich darstellenden Y-Körperchen hätte der Erfahrene jedoch ohne weiteres die richtige Diagnose "männlich" gestellt. Aus den in Wasser gelagerten Gewebeproben war eine Geschlechtsdiagnose bis einschließlich 3. Tag p.m. immer möglich. Bei der mikroskopischen Beurteilung der Nierenpräparate sollten wieder 50 Zellkerne pro Präparat ausgezählt werden. Dies gelang bei älterem Zellmaterial aus den schon unter I Hirngewebe genannten Gründen nicht immer. Hirngewebe und entsprechende Organproben aus der Rindenschicht der Niere stammten jeweils von denselben Leichen.

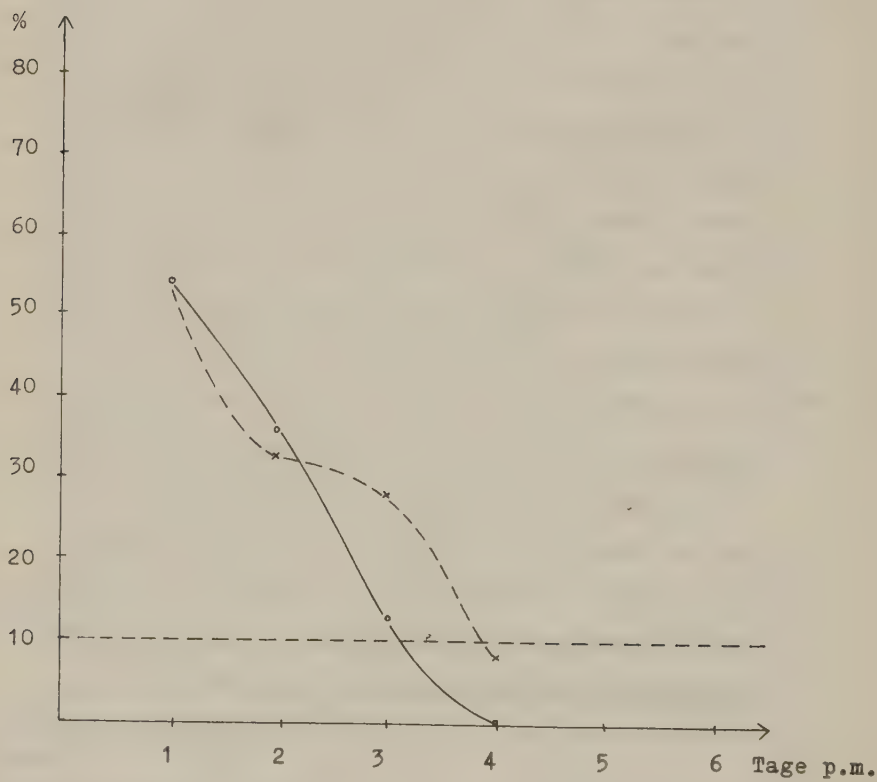
1. Ergebnisse bei sieben männlichen Leichen

GS 580/75

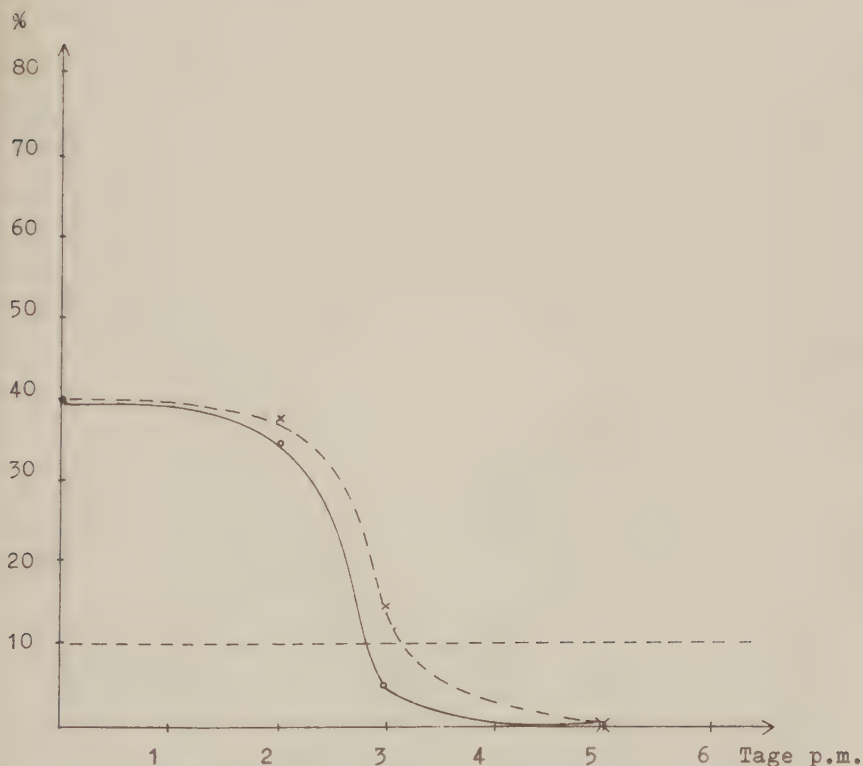


Auffallend ist der hohe Zellindex am Beginn der Untersuchungen und der steile Abfall der Kurve zwischen 2. und 4. Tag p.m. Bereits am 4. Tag p.m. waren in zwei Luftpräparaten nur noch jeweils 7 Kerne zu sehen.

GS 619/75

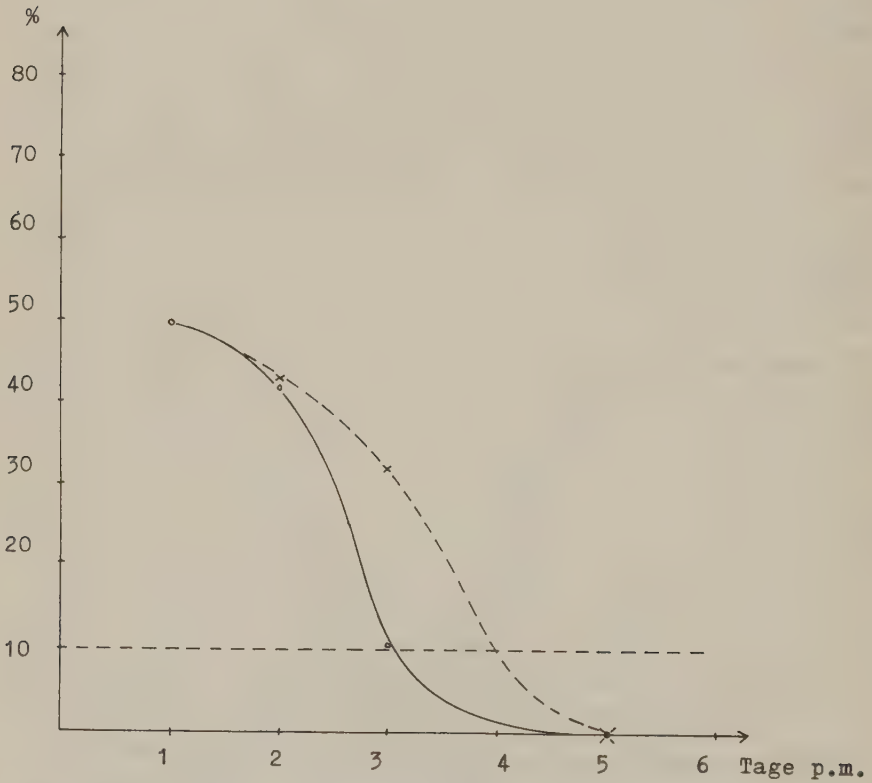


GS 643/75



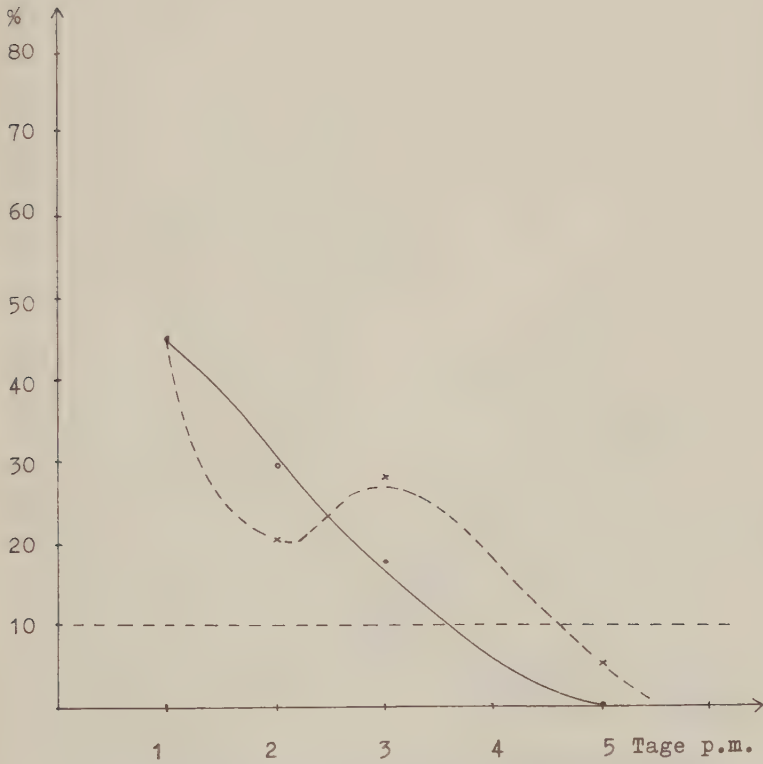
Zwischen 2. und 3. Tag p.m. nimmt in den meisten Präparaten nicht nur der Zellindex stark ab, sondern auch die Qualität des mikroskopischen Bildes. Während im vorliegenden Fall am 2. Tag p.m. noch viele gut erhaltene Kerne zu finden sind, zeigen sich einen Tag später massenhaft Bakterien und Kerntrümmer. Eine Geschlechtsdiagnose ist bei den Luftpräparaten bereits am 3. Tag p.m. nicht mehr möglich.

GS 780/75



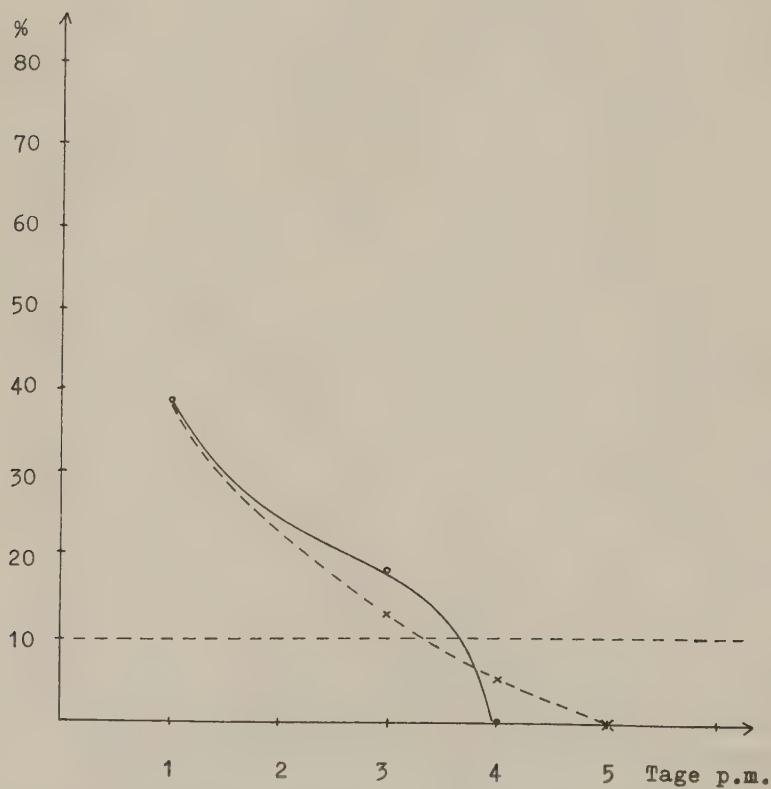
Durch Lagerung der Organproben in Wasser konnte der Abfall des Zellindex zwischen 2. und 3. Tag stark verzögert werden. Eine eindeutige Geschlechtsbestimmung in den Wasserpräparaten ist deshalb auch am 3. Tag p.m. noch einfach durchzuführen.

GS 783/75



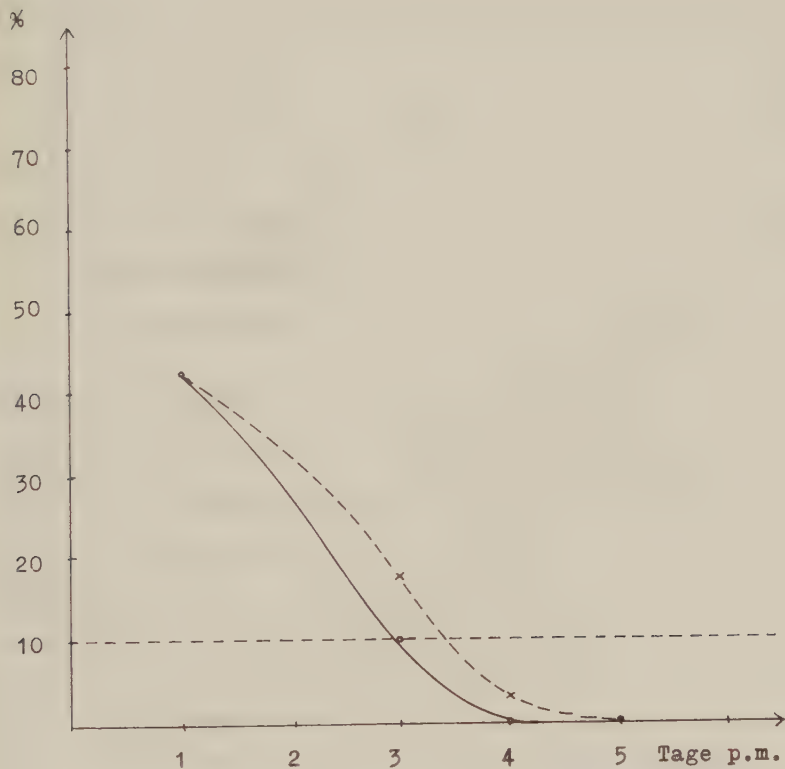
Schon am 4. Tag p.m. gelingt es bei den Luftpräparaten in keinem einzigen der 7 Fälle mehr, 50 Zellkerne pro Präparat auszuzählen.

GS 792/75



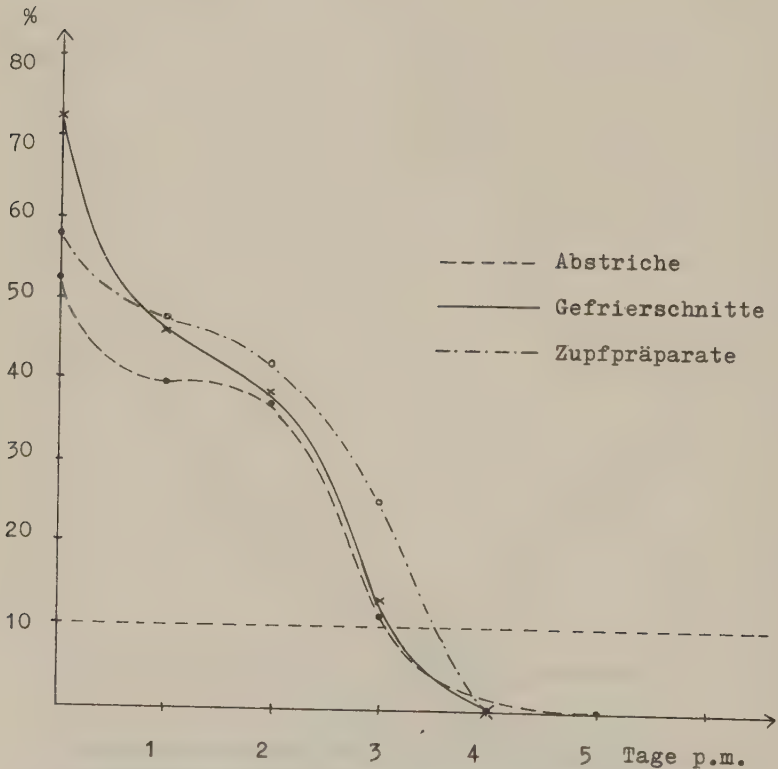
Erst am 4. Tag p.m. war der Zellindex in den Wasserpräparaten höher als in den Luftpräparaten. Der Grund für den niedrigen Wert bei den Wasserpräparaten am 3. Tag p.m. konnte nicht gefunden werden.

GS 793/75



Bereits am 3. Tag p.m. ist der Zellindex der Luftpräparate bis auf 10% abgefallen. Da sich im mikroskopischen Bild nur wenige Bakterien befanden und die Kerne relativ gut erhalten waren, gab es an der richtigen Diagnose "männlich" dennoch keinen Zweifel.

Korrelation zwischen Zellindex und angewandter Untersuchungstechnik bei insgesamt 7 männlichen Leichen.



Die in Wasser gelagerten Nieren sind in der Abbildung nicht berücksichtigt.

Ähnlich wie bei den Gewebeproben vom Gehirn weisen auch hier die Zupfpräparate am 2. und 3. Tag p.m. den höchsten Zellindex auf. Überraschend ist, daß bereits am 4. Tag in keiner Zelle mehr ein Y-body nachweisbar war.

Übersichtstabelle: Gewebeproben aus der Nierenrinde

Zellindex in Prozent

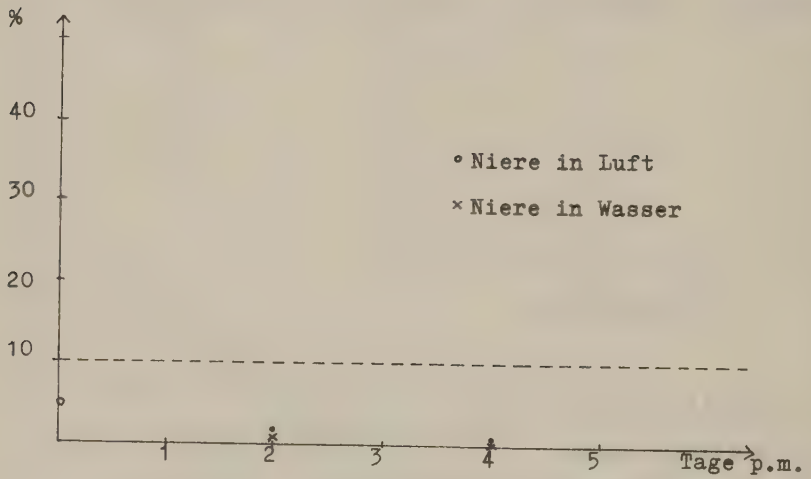
Tage p.m.	Abstriche	Gefrierschnitte	Zupfpräparate
0	53	73	58
1	40	46	48
2	37	38	43
3	11	12	25
4	0	0	0
5	0	0	0

Die Tabelle zeigt den mittleren Zellindex im Verlauf der ersten 5 Tage p.m. bei insgesamt 7 männlichen Leichen. Die in Wasser gelagerten Nieren wurden dabei nicht berücksichtigt.

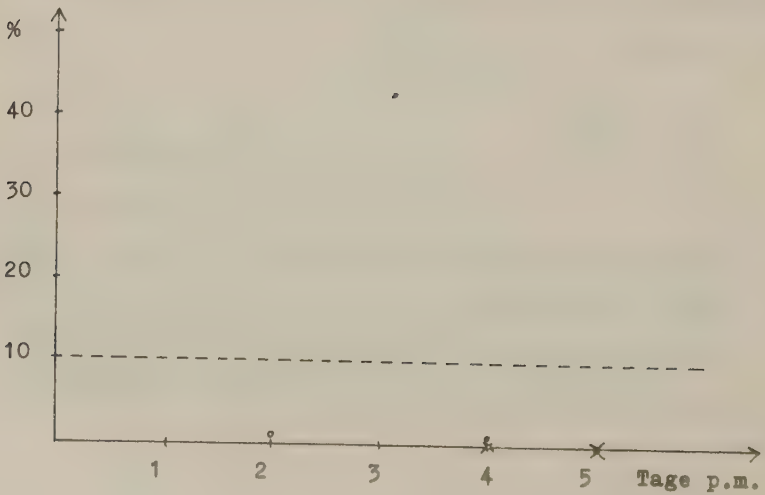
Bemerkenswert ist der schnelle Abfall der Zellindices vom 3. auf den 4. Tag p.m.

2. Ergebnisse bei vier weiblichen Leichen

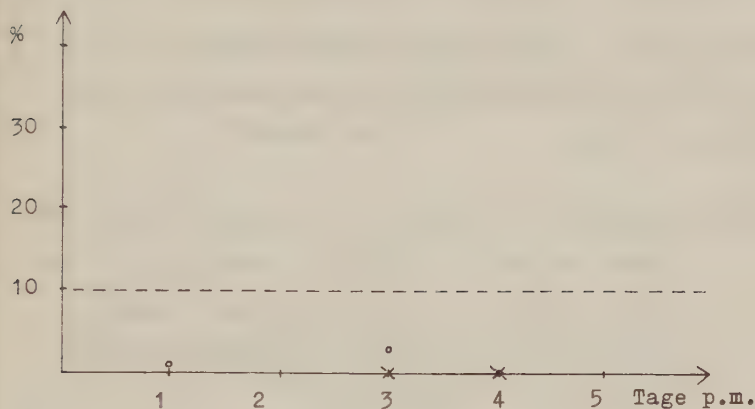
GS 650/75



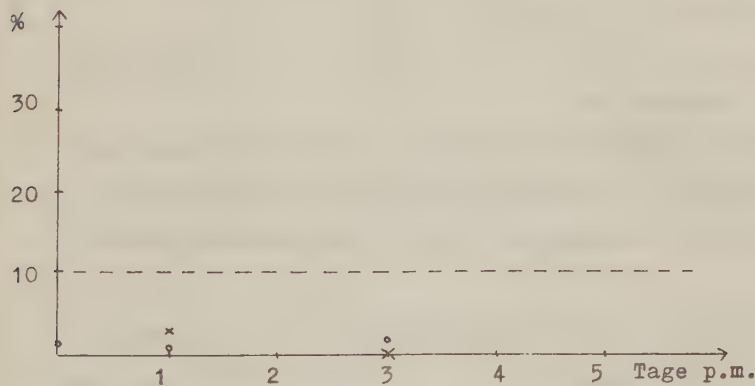
GS 655/75



GS 810/75



GS 879/75



Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß bei allen vier Fällen der "weibliche" Grenzbereich nie überschritten wurde. Im wesentlichen trifft für die Untersuchung der Nierenpräparate das gleiche zu wie bei der Beurteilung der weiblichen Gewebeproben vom Gehirn. (siehe Seite 21)

III. In Fäulnis übergegangene Leichen

Ergebnisse aus 11 untersuchten Gewebeproben des Gehirns und der Nierenrinde von 10 männlichen und einer weiblichen Leiche.

GS 592/75 männlich, 22 Jahre; Tablettenvergiftung
schätzungsweise 4 Tage tot; untersucht 2 Tage
nach Auffinden der Leiche in der Wohnung;
makroskopisches Bild: weit fortgeschrittene
allgemeine Leichenfäulnis

Gesamtzahl der Kerne/Y-body-positive Kerne:

HA (=Abstrich vom Gehirn)	40/0	
HS (=Gefrierschnitt)	50/0	125/4 = 3%
HZ (=Zupfpräparat)	35/4	

Aus der Übersichtstabelle (s. S. 18) ergibt sich der
4. Tag p.m. Die Bestimmung des Kerngeschlechts ist
wegen des niedrigen Zellindex nicht mehr möglich.

NA (=Abstrich von der Niere)	47/7	
NS (=Gefrierschnitt)	20/4	117/26 = 22%
NZ (=Zupfpräparat)	50/15	

Aus der Übersichtstabelle (s.S. 33) ergibt sich der
3. Tag p.m. Eine Geschlechtsbestimmung war möglich.

GS 596/75 weiblich, 17 Jahre; Tablettenvergiftung;
schätzungsweise 4 Tage tot; untersucht 2
Tage nach Auffinden der Leiche in der Wohnung;
makroskopisches Bild: Zeichen allgemeiner
Leichenfäulnis

HA 50/3

HS 50/3 150/7 = 5%

HZ 50/1

Nur bei bekanntem Spurenalter unter 3 Tagen p.m. wäre
hier eine Ausschlußdiagnose "weibliches Kerngeschlecht"
erlaubt. (s. Tabelle S. 18)

NA 25/0

NS 25/1 100/4 = 4%

NZ 50/3

Nur bei einem Alter der Gewebeproben unter 4 Tagen p.m.
ist in diesem Fall die Ausschlußdiagnose "weibliches
Kerngeschlecht" möglich (s. Tabelle S. 33)

GS 602/75 männlich, 80 Jahre; Pneumonie; untersucht am
4. Tag p.m.

makroskopisches Bild: beginnende Leichenfäulnis

HA 50/4

HS 50/7 150/15 = 10%

HZ 50/4

Eine sichere Diagnose "männliches Kerngeschlecht" kann

nicht mehr gestellt werden. Für das Alter der Gewebsproben ergibt sich aus der Tabelle der 3. Tag p.m.

NA 50/3

NS 50/3 150/8 = 5%

NZ 50/2

Die Gewebsproben sind vermutlich 3 bis 4 Tage alt.
(Tabelle)

GS 605/75 männlich, 24 Jahre; zentrale Lähmung bei
Schädelbasisbruch und Verletzung der HWS;
untersucht am 3. Tag p.m.
makroskopisches Bild: Die Leiche ist insgesamt gasförmig aufgetrieben.

HA 50/1

HS 50/3 150/18 = 12%

HZ 50/14

Das Hirngewebe ist erweicht. Die Bestimmung des männlichen Kerngeschlechts war nur aus dem Zupfpräparat möglich. Als Gewebsprobenalter ergibt sich der 3. Tag p.m.

NA kein Zellkern sichtbar

NS vereinzelte Kerntrümmer erkennbar

NZ 25/0

Schnittfläche: dunkelblaurote Farbe, im Bereich des Nierenmarks und der Rinde deutliche Gasbildung fest-

stellbar. Bereits am 3. Tag p.m. sind aus der Gewebsprobe keine Rückschlüsse mehr auf Geschlecht und genauen Todeszeitpunkt möglich.

GS 612/75 männlich, 79 Jahre; Ertrinken; Leiche lag
2 Tage im Wasser; untersucht am 6. Tag p.m.

HA 50/3

HS 40/4 140/9 = 6%

HZ 50/2

Aus der Übersichtstabelle ergibt sich der 3. bis
4. Tag p.m.

NA 50/0

NS 50/1 150/3 = 2%

NZ 50/2

Vermutlich 4. Tag p.m. (s. Tabelle S. 33)

GS 657/75 männlich, 48 Jahre; Ertrinken; Leiche lag
10 Tage im Wasser; untersucht 11 Tage p.m.

HA 50/0

HS 40/3 140/7 = 5%

HZ 50/4

In allen drei mikroskopischen Präparaten findet sich ein dichter Bakterienrasen. Aus der Übersichtstabelle würde sich hier der 3. bis 4. Tag p.m. ergeben.

NA kein Kern auffindbar

NS 50/2 das Präparat ist zellarm. Die schwach fluoreszierenden Kerne scheinen völlig intakt zu sein.

NZ 3/0 die Kerne sind nur noch als schattenhafte Gebilde zu erkennen.

Alle drei Präparate sind von Bakterien überwuchert. Das genaue Alter der Gewebeproben nach dem Tod und das Kerngeschlecht sind nicht mehr zu bestimmen.

GS 658/75 männlich, 37 Jahre ; Ertrinken; Leiche lag 11 Tage im Wasser; untersucht 11 Tage p.m.

Das Gehirn war total erweicht und hatte sich in eine graue schmierige Masse umgewandelt. Eine mikroskopische Untersuchung wurde deshalb nicht mehr vorgenommen.

NA

NS in keinem dieser Präparate waren Kerne zu finden

NZ

GS 801/75 männlich, 74 Jahre; Leiche lag ca. 10 Tage im Wasser; untersucht vermutlich 10 Tage p.m.
makroskopisches Bild: deutlich fortgeschrittene allgemeine Leichenfäulnis.

HA 50/2

HS 50/3 150/12 = 8%

HZ 50/7

Die Kerne erscheinen blaß, sind aber überwiegend scharf begrenzt. Aus der Übersichtstabelle (S. 18) ergibt sich der 3. tag p.m. Eine Geschlechtsbestimmung war nur aus dem Zupfpräparat möglich.

NA 50/15

NS 50/6 150/21 = 14%

NZ 50/0

Die Kerne sind gut erhalten. Eine eindeutige Bestimmung des Kerngeschlechts ist für NA und NS ohne weiteres möglich. Aus der Übersichtstabelle (S. 33) ergibt sich der 2. bis 4. Tag p.m.

GS 806/75 männlich, 34 Jahre; Todeszeitpunkt unklar;
die Sekton erfolgte ca. 3 Wochen p.m.
makroskopisches Bild: stark fortgeschrittene
Fäulnis der Haut und der inneren Organe.

Das Gehirn war grünlich verfärbt und völlig erweicht.
Eine mikroskopische Untersuchung wurde nicht vorgenommen.

In den mikroskopischen Präparaten der Niere sind lediglich zahlreiche sehr hell leuchtende Artefakte zu sehen.

GS 832/75 männlich, 35 Jahre; Kreislaufversagen bei
Herzzertrümmerung; untersucht 3 Tage nach
Auffinden in der Wohnung.

HA 50/1

HS 50/1 150/2 = 1%

HZ 50/0

Aus der Übersichtstabelle ergibt sich der 4. bis 5.
Tag p.m.

NA 50/0

NS 50/0

NZ 50/0

Überwiegend schollige Zersplitterung und Auflösung
der Zellkerne.

GS 836/75 männlich, unbekannte Wasserleiche, teil-
weise skelettiert; untersucht 1 Tag nach
Auffindung.

Das Gehirn ist völlig erweicht und hat sich in eine
schmierige graubraune Masse umgewandelt. Die Be-
stimmung des Kerngeschlechts ist nicht mehr möglich.

NA 4/0

NZ 6/0

Beide Präparate sind von einem gleichmäßigen Bak-
terienrasen bedeckt. Im Gefrieschnittpräparat war
kein Zellkern sichtbar.

E Diskussion

Eine eindeutige Bestimmung des männlichen Kerngeschlechts ist aus frischen Gewebeproben des Gehirns und der Niere möglich. Bereits 3 bis 4 Tage nach dem Tod gelingt es aber in der Regel nicht mehr, eine sichere Geschlechtsdiagnose mit Hilfe der fluoreszenzmikroskopischen Methode zu stellen. Dies hat mehrere Gründe:

Zum einen nimmt die Zahl zweifelhafter Y-body zu, zum anderen sinkt der Prozentsatz der Fluoreszenzkörperchen in älterem Zellmaterial ab. Für das Absinken des Zellindex, also der Anzahl an Fluoreszenzkörperchen sind nach SCHWINGER²⁷ zwei Erklärungen möglich: entweder lösen sich mit zunehmendem Alter der Zellen post mortem Chromatinstrukturen auf, oder die spezifische Anfärbbarkeit des Y-Chromosoms geht bei erhaltenem Heterochromatin verloren. Die Zunahme zweifelhafter Y-body ist in erster Linie durch die Vermehrung der Bakterien und das gehäufte Auftreten von Artefakten bedingt. Das Chromatinkörperchen ist zwar kleiner, heller und schärfer begrenzt als ein Bakterium (PEARSON²⁰), es bereitet aber dennoch meist große Schwierigkeiten, ein mit Bakterien besiedeltes Präparat richtig zu beurteilen. Artefakte sind dagegen aufgrund ihrer Größe und Leuchtintensität

leichter von Y-body abzugrenzen.

Wegen zahlreicher Fehlerquellen, die eine exakte Bestimmung des Kerngeschlechts beeinträchtigen, sind deshalb nach Möglichkeit folgende Forderungen zu erfüllen:

1. Die Organproben sind noch am Tag der Entnahme zu untersuchen
2. Es muß eine genügend große Anzahl von Zellkernen ausgezählt werden
3. Es sollen nur einzeln liegende, intakte Zellkerne beurteilt werden. Kerngrenzen und Fluoreszenzkörperchen müssen klar erkennbar sein.

In der Praxis gelingt es oft nicht, allen drei Forderungen gleichzeitig gerecht zu werden. Auch der Versuch, durch die Wahl einer geeigneten Methode in älteren Präparaten eine optimale Kernaussorte zu erhalten, ist nur teilweise geglückt. Mit Hilfe der Zupfpräparate lassen sich zwar bei Gewebeproben, die schon einige Tage alt sind, meist mehr Zellkerne und Y-body darstellen als mit der Abstrich- oder Gefrierschnittmethode (s. S. 18 und S. 33), aber die zeitliche Nachweisgrenze des männlichen Kerngeschlechts wird damit höchstens um einen Tag verlängert. Der größte Abfall des Zellindex liegt nach wie vor in jedem Fall zwischen 2. und 3. Tag p.m. Hieran ändert

auch die anscheinend schonendere Behandlung der Zellkerne durch Herstellung von Zupfpräparaten nichts.

Mit der Lagerung der Organproben in Wasser gelingt es ebenfalls nur in geringem Maße (vgl. GS 643), die zeitliche Nachweisgrenze der Chromatinkörperchen zu variieren. Der größte Abfall des Zellindex liegt hier oft erst um den 3. Tag p.m. (vgl. GS 783, GS 793).

Eine Geschlechtsbestimmung ist deshalb an Wasserpräparaten meist einen Tag länger möglich. Die Qualität des mikroskopischen Bildes korreliert dabei relativ gut mit der Höhe des Zellindex. Dies trifft auch für die in Luft gelagerten Gewebe zu. Von Fall zu Fall häufig auftretende Schwankungen des Zellindex sind übrigens nicht alleine durch unterschiedlich lange Lagerungszeiten, die Anwendung verschiedener Methoden oder die Aufbewahrung der Organproben sowohl an der Luft als auch im Wasser bedingt, sondern haben auch eine Reihe anderer Faktoren als Ursache.

Bereits CASPERSSON⁷ und MANOLOV¹⁷ weisen in diesem Zusammenhang auf eine individuelle Komponente hin. Nur so sind auch die bei den eigenen Untersuchungen gewonnenen Ergebnisse zu interpretieren. Bei der Bestimmung des Kerngeschlechts aus frischem Hirngewebe schwankte der Zellindex zwischen 75% (GS 580) und 36% (GS 793). Fünf der sieben untersuchten Gehirne

wiesen allerdings Werte zwischen 40% und 50% auf. Ähnlich waren die Verhältnisse bei den Organproben aus der Niere. CASPERSSON⁷ schlägt deshalb vor, zur Sicherheit eine gleichzeitige Bestimmung des Barr-Körperchens vorzunehmen. Dabei ist jedoch zu bedenken, daß das Barr-Körperchen eine geringere Stabilität in toten Geweben hat, als das Y-body (SCHWINGER²⁷). Im Rahmen dieser Überlegungen stellt sich auch die Frage, welchem morphologischen Korrelat die bisweilen in weiblichen Zellkernen vorkommenden F-body ähnlichen Strukturen entsprechen. SCHWINGER²⁷ vermutet, daß autosomales Heterochromatin oder Artefakte wie Fetttröpfchen, Glasverunreinigungen etc. die Ursache sind.

Außer den erwähnten individuellen Unterschieden kann auch eine fehlerhafte Bestimmung des Y-Körperchens der Grund für Schwankungen des Zellindex sein. Da durch Fluorochrome alle Chromatinstrukturen der Zellkerne angefärbt werden, können durch Überlagerungen der Zellen im Mikroskop hell aufleuchtende Bezirke entstehen, die dann mit Fluoreszenzkörperchen zu verwechseln sind. Das optische Schneiden der Präparate durch Drehen an der Mikrometerschraube bringt in diesen Fällen rasch Klarheit. Um zuverlässige Ergebnisse zu erhalten, empfiehlt es sich auch, nach dem Färben der Präparate darauf zu achten, daß die Objektträger mindestens 20 Mi-

nuten dem Tageslicht ausgesetzt werden. In frisch gefärbtem Zustand sind die Präparate nämlich kontrastärmer als ca. eine Viertelstunde später (HELLWEG-FRÜND¹¹, MAJEWSKI e. al.¹⁶). Dadurch sinkt die Anzahl der Fluoreszenzkörperchen ab und die positive Diagnose des männlichen Kerngeschlechts scheitert noch früher als sonst. Bei umsichtigem Arbeiten läßt sich dieser Fehler jedoch leicht eliminieren. Allerdings ist auch dann, wie aus den Abbildungen für die Wasserpräparate ersichtlich ist, nach spätestens 4 Tagen p.m. keine Geschlechtsbestimmung mehr möglich. In der Regel sind nach weiteren ein bis zwei Tagen auch die restlichen Zellkerne untergegangen.

Umso erstaunlicher war es deshalb bei der Untersuchung der in Fäulnis übergegangenen Leichen, daß hier Kernstrukturen in einem Fall (GS 836) sogar noch nach Monaten zu erkennen waren. Dies zeigt, daß in den beschriebenen Lagerungsversuchen die natürlichen Verhältnisse nur unvollkommen nachgeahmt werden konnten. Nur so sind auch die Ergebnisse anderer Autoren erklärbar. KOVACS¹⁵ berichtet von einem Zellindex von 30% am Gehirn noch nach 23 Tagen p.m. HERBICH u. MEINHART³⁸ registrierten an Gewebeproben aus verschiedenen parenchymatösen Organen, u.a. der Niere noch nach drei bis sieben Tagen Liegezeit der Leichen Zellindices von über 30%. Diese hohen Werte konnten in den eigenen Untersuchungen nach

dem zweiten Tag p.m. nie beobachtet werden. Durch Lagerung der ganzen Leichen bei niedriger Temperatur läßt sich die zeitliche Nachweisgrenze der Fluoreszenzkörperchen und der Zellkerne wahrscheinlich sehr verlängern. Niere und Gehirn sind im Körper der Leiche wesentlich besser vor Austrocknung und Bakterienbefall geschützt als außerhalb(vgl. dazu GS 801). Über die Lagerungsbedingungen wie Temperatur, Luftfeuchtigkeit etc. werden jedoch von den genannten Autoren keine Angaben gemacht. Ein Vergleich der Zellindices muß deshalb unbefriedigend bleiben.

Abschließend sei noch auf den Versuch hingewiesen, aus dem Zellindex der Präparate von faulen Leichen Rückschlüsse auf den Zeitpunkt ihres Todes zu erhalten. Die Grundlage dafür bilden die aus den Lagerungsversuchen gewonnenen Übersichtstabellen. Mit ihrer Hilfe kann man jedem beliebigen Zellindex den entsprechenden Tag p.m. zuordnen. Bei der Bestimmung des Todeszeitpunktes aus gut erhaltenen älteren Präparaten (GS 657, GS 801) traten jedoch erhebliche Fehler auf. Für eine Anwendung in der gerichtsmedizinischen Praxis ist diese Methode deshalb nicht geeignet.

F Zusammenfassung

Der fluoreszenzmikroskopische Nachweis des Y-body in männlichen Interphasekernen wurde an Gehirn und Niere mittels Quinacrine Mustard Färbung durchgeführt.

Von 7 männlichen und 4 weiblichen Leichen wurden Gewebstücke aus beiden Organen bei Zimmertemperatur an der Luft bzw. im Wasser aufbewahrt. Die Untersuchungen ergaben, daß an Gehirnproben die an der Luft lagerten bis durchschnittlich 2 Tage p.m., an Gehirnproben, die in Wasser lagerten bis durchschnittlich 3 Tage p.m. eine positive Geschlechtsdiagnose "männlich" möglich ist.

Die Lagerungsversuche ergaben sowohl für das an der Luft als auch für das im Wasser aufbewahrte Nierengewebe eine zeitliche Nachweisgrenze des männlichen Kerngeschlechts von durchschnittlich 3 Tagen p.m.

Außerdem wurden Organproben von Hirn und Niere von 10 männlichen und einer weiblichen Leiche, die sich bereits im Fäulniszustand befanden, auf Fluoreszenzkörperchen untersucht. An beiden Geweben war in je zwei Fällen eine positive Geschlechtsbestimmung möglich.

Drei verschiedene Präparationsverfahren, nämlich Ausstrich, Gefrierschnitt und Zupfpräparat zeigten,

daß für den Nachweis des Y-body in älterem Gewebe
Zupfpräparate besonders geeignet sind.

G Literaturverzeichnis

1. BARLOW, P.: The Y-chromosome in human spermatozoa. Nature (Lond.) Vol. 226, 961 (1970)
2. BARR, M.L., E.G. BERTRAM: A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. Nature (Lond.) Vol. 163, 676 (1949)
3. BRINKMANN, B., U. JOBST: Bestimmung des Kerngeschlechts an biologischen Spuren. Z. Rechtsmedizin 73, 1-6 (1973)
4. CASPERSSON, T., L. ZECH, E. J. MODEST, G. E. FOLEY, U. WAGH, E. SIMONSSON: Chemical differentiation with fluorescent alkylating agents in Vicia faba metaphase chromosomes. Exptl. Cell Res. 58, 128-140 (1969)
5. CASPERSSON, T., L. ZECH, E. J. MODEST, G. E. FOLEY, U. WAGH, E. SIMONSSON: DNA-binding fluorochromes for the study of the organization of the metaphase nucleus. Exptl. Cell Res. 58, 141-152 (1969)
6. CASPERSSON, T., L. ZECH, C. JOHANNSON: Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. Exptl. Cell Res. 60, 315-319 (1970)

7. CASPERSSON, T., L. ZECH, C. JOHANNSON, J. LINDSTEN,
M. HULTEN: Fluorescent staining of heteropycnotic
chromosome regions in human interphase nuclei.
Exptl. Cell Res. 61, 472-474 (1970)
8. CONEN, P. E., P. K. LEWIN, D. V. VAKIL: Rapid
Y-chromosome identification in human blood smears.
Canad. med. Ass. J. 104, 925 (1971)
9. FRÜND, S., T. KOSKE-WESTPHAL, S. FUCHS-MECKE, E.
PASSARGE: Quinacrine mustard fluorescence of a
second Y-chromosome in a Y-autosomal translocation.
Humangenetik 14, 133-136 (1972)
10. GOLDFEFTER, L. J., N. Y. GAKHOV, A. F. GANIN,
A. N. MOSOLOV: Identifying Y-chromosome in inter-
phase nuclei of the human brain. Experienta, Basel,
29-Fasc. 11, 1428-1429 (1973)
11. HELLWEG-FRÜND, S., T. KOSKE-WESTPHAL, S. FUCHS-
MECKE, E. PASSARGE: Fluoreszenzmikroskopische
Identifizierung von Anomalien des Y-Chromosoms.
Dtsch. med. Wschr. 97, 1650-1661 (1972)
12. HERBICH, J., K. MEINHART: Fluoreszenzoptischer
Nachweis des Y-Chromoms in isolierten Gewebs-
zellkernen. Ärztl. Lab. 18, 328-331 (1972)
13. IORIO, R. J., H. E. WYANDT: Quinacrine studies
of sex chromatin and nucleoli in human brain.
Humangenetik 20, 329-333 (1973)

14. KEGEL, J., P. E. CONEN: Nuclear sex identification in human tissues: A histologic study using giunacrine fluorescence. Amer. J. clin. Path. 57, 425 (1972)
15. KOVACS, M., L. HARSANYI, M. SELLYEI: Y-body in cell nuclei of parenchymatous organs. Z. Rechtsmedizin 71, 104-107 (1972)
16. MAJEWSKI, F., L. BIER, R. A. PFEIFFER: Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis des menschlichen Y-Chromosoms in Interphasekernen durch Acridinderivate ("Atebrin", "Acranil"). Klin. Wschr. 49, 814-818 (1971)
17. MANOLOV, G., MANOLOVA, Y., G. FISKESJÖ, A. LEVAN: The complexity of the fluorescent pattern of the human Y-chromosome. Hereditas (Lund) 68, 328-331 (1971)
18. MENDE, S., A. ALONSO: Bestimmung des männlichen Kerngeschlechts in menschlichen Blutzellen. Dtsch. med. Wschr. 26, 1122- 1127 (1971)
19. MÜLLER, H.-J., M. G. VOEGELIN, E. M. BÜHLER, G. R. STALDER: Erfahrungen mit der fluoreszenzmikroskopischen Erfassung des menschlichen Y-Chromosoms in Interphasekernen verschiedener Gewebe. Archiv f. Genetik 45, 35-48 (1972)
20. PEARSON, P. L., M. BOBROW, C. G. VOSA: Technique for identifying Y-chromosomes in human inter-

- phase nuclei. Nature (Lond.) 226, 78-80 (1970)
21. POLANI, P. E., D. E. MUTTON: Y-fluorescence of interphase nuclei, especially circulating lymphocytes. Brit. med. J. I, 138 (1971)
22. ROBINSON, J.: Y-chromosome fluorescence in buccal mucosa cells: a study on a newborn population. Ann. Hum. Genet., Lond. 35, 61-65 (1971)
23. SCHAIDT, G., A. KRÜGER: Die Geschlechtsbestimmung an Blutproben und Blutspuren männlicher Personen. Arch. f. Kriminol. 151, 41-48 (1973)
24. SCHWINGER, E., E. RAKEBRAND, H.-J. MÜLLER, E. M. BÜHLER, U. TETTENBORN: Y-body in hair roots. Humangenetik 12, 79-80 (1971)
25. SCHWINGER, E.: Geschlechtsbestimmung an Blutspuren. Z. Rechtsmedizin 70, 157-162 (1972)
26. SCHWINGER, E., F. PERA: On the splitting of the Y fluorescent body in man. Humangenetik 14, 107-111 (1972)
27. SCHWINGER, E.: Bedeutung und gerichtsmedizinische Anwendung der DNS-Fluorochromierung von Chromosomen und Zellkernen. Arbeitsmethoden der medizinischen und naturwissenschaftlichen Kriminalistik, Band 13, Verlag Schmidt-Römhild, Lübeck 1975
28. SELLYEI, M., L. VASS, T. KRANSZ: Non-random appearance of Y-chromatin-like fluorescence in the nuclei of thyroid and brain and its chromosomal background. Humangenetik 27, 339-342 (1975)

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Spann
und Herrn Priv.-Doz. Dr. Träger für die Überlassung
des Themas, sowie Fräulein Schmidt für ihre stets
freundliche Hilfe im cytologischen Labor.

Lebenslauf

Am 18. August 1948 wurde ich als Sohn des Ehepaares Fritz und Erika Hörwick in München geboren. Von 1955 bis 1958 besuchte ich die Volksschule an der Ichostraße in München. Anschließend wechselte ich zur Volksschule an der Rotbuchenstraße in München über. 1960 trat ich in das Maria-Theresia-Gymnasium in München über. Im Juni 1970 legte ich am gleichen Gymnasium das Abitur ab.

Im Wintersemester 1970/71 studierte ich Biologie an der Ludwig-Maximilians-Universität in München. Im Sommersemester 1971 nahm ich das Studium der Medizin an der gleichen Universität auf. Nach der naturwissenschaftlichen Vorprüfung im April 1972 und der ärztlichen Vorprüfung im September 1973 legte ich zwischen März und Juni 1977 die ärztliche Prüfung ab.

